

## بررسی فعالیت مهاري ابيوپروفن بر روي متاستاز و تهاجم در سلول های بنیادی سرطان معده

فاطمه محمودی، حسن اکرمی\*

گروه زیست شناسی، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۲۸

### چکیده:

**زمینه و هدف:** در هر بافت سرطانی جمعیت نادر و متمایز از سلول ها به نام سلول های بنیادی سرطانی وجود دارند که مسئول شروع، گسترش، متاستاز و تهاجم در سرطان ها شناخته شده اند. مطالعات متعدد به مهار داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAID) از قبیل ابيوپروفن بر پیشرفت و گسترش تعدادی از تومورها اشاره می کنند. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر داروی ابيوپروفن بر متاستاز و قدرت تهاجم سلول های بنیادی سرطان معده انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی سلول های بنیادی سرطانی از دو رده سلولی سرطان معده (AGS و MKN45) با استفاده از تکنیک تشکیل اجسام کروی (spheroid colony formation) جداسازی شد و سپس با غلظت های ۵۰۰-۱۰۰ میکرومولار از داروی ابيوپروفن تیمار شد. قدرت تهاجم و متاستاز در سلول های بنیادی سرطانی تیمار شده نسبت به سلول های کنترل با استفاده از روش ترمیم زخم (Wound healing method) بررسی شد.

**یافته ها:** در بررسی میزان مقاومت دارویی، زنده بودن سلول های بنیادی جداسازی شده از رده سلولی AGS و MKN45 نسبت به رده های سلولی والدی و میزان مقاومت رده سلولی MKN45 نسبت به AGS بیشتر بود. قدرت تهاجم و متاستاز در سلول های بنیادی سرطانی تیمار شده با غلظت های ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار از داروی ابيوپروفن نسبت به سلول های بنیادی سرطانی کنترل کاهش پیدا کرد.

**نتیجه گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه بیان کننده تأثیر داروی ابيوپروفن بر قدرت متاستاز و تهاجم سلول های بنیادی سرطان معده به عنوان سلول های شروع کننده و گسترش دهنده سرطان می باشد. به نظر می رسد که با بررسی های بیشتر در این زمینه می توان از ابيوپروفن به عنوان دارویی برای بهبود و درمان سرطان نیز استفاده کرد.

**واژه های کلیدی:** سرطان معده، سلول های بنیادی سرطانی، متاستاز، تهاجم.

### مقدمه:

که جمعیتی متمایز و نادر از سلول ها به نام سلول های بنیادی سرطانی (Cancer stem cells= CSCs) یا سلول های شروع کننده تومور در بین سایر سلول های توموری وجود دارند (۵) که در هر تومور بدخیم باعث رشد تومور (۶)، تهاجم موضعی و متاستاز به بافت های دور دست می شوند (۸،۷)؛ همچنین این سلول ها مسئول مقاومت دارویی و بازگشت بیماری نیز شناخته شده اند (۹،۱۰). سلول های بنیادی سرطانی دارای توانایی و ویژگی هایی مشابه سلول های بنیادی از

سرطان معده یکی از کشنده ترین و شایع ترین سرطان ها در تمام دنیا است (۱). سرطان معده معمولاً در مراحل پیشرفته تشخیص داده می شود و علی رغم مداخلات درمانی انجام شده افراد مبتلا جان خود را در اثر این بیماری از دست می دهند به گونه ای که از هر ۹۸۸۰۰۰ مورد جدید مبتلا به بیماری در سال ۲۰۰۸، ۷۳۶۰۰۰ نفر مرده اند (۲،۳). از مشکلات بیشتر سرطان ها از جمله سرطان معده تکثیر سلولی غیر قابل کنترل و متاستاز می باشد (۴). در حال حاضر، به خوبی می دانیم

\*نویسنده مسئول: کرمانشاه- دانشگاه رازی کرمانشاه- گروه زیست شناسی- تلفن: ۰۹۱۲۴۱۸۶۴۲۳، E-mail: h.akrami@razi.ac.ir

جمله خود تجدیدی و تمایز به انواع سلول های مختلف هستند (۶). طی مطالعات انجام شده گذشته حضور این سلول ها در سرطان های مختلف از جمله سرطان معده گزارش شده است (۱۴-۱۱).

برای مطالعه هر چه بهتر مسیرهای ژنی و ویژگی های رفتاری سلول های بنیادی سرطانی ابتدا باید آن ها را از سایر سلول های توموری جداسازی کرد. در حال حاضر چندین روش متفاوت برای شناسایی و جداسازی سلول های بنیادی سرطانی بر اساس ویژگی ها و بیومارکرهاشان وجود دارد (۱۵). از جمله این روش ها، تشکیل اجسام کروی است که به شکل کار آمدی، در بافت توموری و رده های سلولی سرطان های مختلف موفق به جداسازی سلول های بنیادی سرطانی شده است (۱۶).

داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی اساساً به عنوان کاهش دهنده درد جهت تسکین درد و کنترل التهاب استفاده می شوند. مطالعات متعدد اپیدمیولوژی، کلینیکی و آزمایشگاهی اشاره دارند به اینکه داروهای NSAID از قبیل ایوپروفن پیشرفت و گسترش تعدادی از تومورها را مهار می کنند. استفاده ی طولانی مدت از ایوپروفن و دیگر داروهای NSAID با کاهش خطر سرطان های پروستات، کولون، پستان و ریه همراه بوده است (۱۷، ۱۸).

این مطالعه با هدف جداسازی سلول های بنیادی سرطانی از دو رده سلولی سرطان معده (MKN45 و AGS) و سپس بررسی اثر ضد تهاجم و متاستازی داروی ایوپروفن بر روی سلول های بنیادی سرطانی جداسازی شده انجام شد.

## روش بررسی:

به منظور انجام این مطالعه تجربی آزمایشگاهی رده های سلولی سرطان معده (MKN45 و AGS) از موسسه انستیتو پاستور ایران خریداری شد. برای کشت این رده های سلولی از محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle's Medium/F12

(Sigma) DMEM/F12 حاوی ۱۰ درصد سرم (Fetal Bovine Serum =FBS; Gibco) ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استرپتومایسین و ۱۰۰ میکرونیوت در میلی لیتر پنی سیلین (Sigma) استفاده شد. پس از کشت، سلول ها در انکوباتور حاوی ۵ درصد دی اکسید کربن ( $CO_2$ ) با رطوبت ۹۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

برای جداسازی سلول های بنیادی سرطانی از رده های سلول والدی، ۵۰۰۰۰ سلول از دو رده سلولی AGS و MKN45 که در فاز لگاریتمی رشد قرار داشتند، به کمک تکنیک تریپان بلو شمارش شده و به فلاسک های سلولی ۲۵ سانتی متری با چسبندگی کم (Low Attachment) که از قبل ۵ میلی لیتر محیط کشت DMEM/F12 بدون سرم حاوی فاکتورهای رشد، EGF ۵ ng/ml، bFGF ۱۰ ng/ml و B27 ۲ درصد بود، افزوده شد و به مدت ۲۱ روز در انکوباتور  $37^{\circ}C$  با ۵ درصد دی اکسید کربن ( $CO_2$ ) و ۹۵ درصد رطوبت قرار گرفت. مراحل تشکیل کلونی ها توسط میکروسکوپ فاز متضاد (Olympus) بررسی و ثبت شد (۱۶). در مرحله بعد مقاومت دارویی سلول های والدی و سلول های بنیادی سرطانی جداسازی شده از آن ها نسبت به داروی ایوپروفن در زمان ۲۴ ساعت اندازه گیری شد. به این منظور ابتدا تعداد ۴۰۰۰۰ سلول از هر کدام از رده های سلولی سرطان معده و سلول های بنیادی سرطانی در هر خانه از ظرف ۲۴ خانه ای کشت داده شد، سپس سلول ها با غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میکرومولار از ایوپروفن به مدت ۲۴ ساعت تیمار داده شدند. نهایتاً میزان زنده ماندن سلول ها با استفاده از روش نوترال رد (Neutral Red) بررسی شد (۱۹). به منظور تبدیل مقدار OD هر غلظت به درصد سلول های زنده از فرمول زیر استفاده شد.

$$100 \times \frac{OD \text{ شاهد}}{OD \text{ تست}} = \text{درصد توانایی زیستی}$$

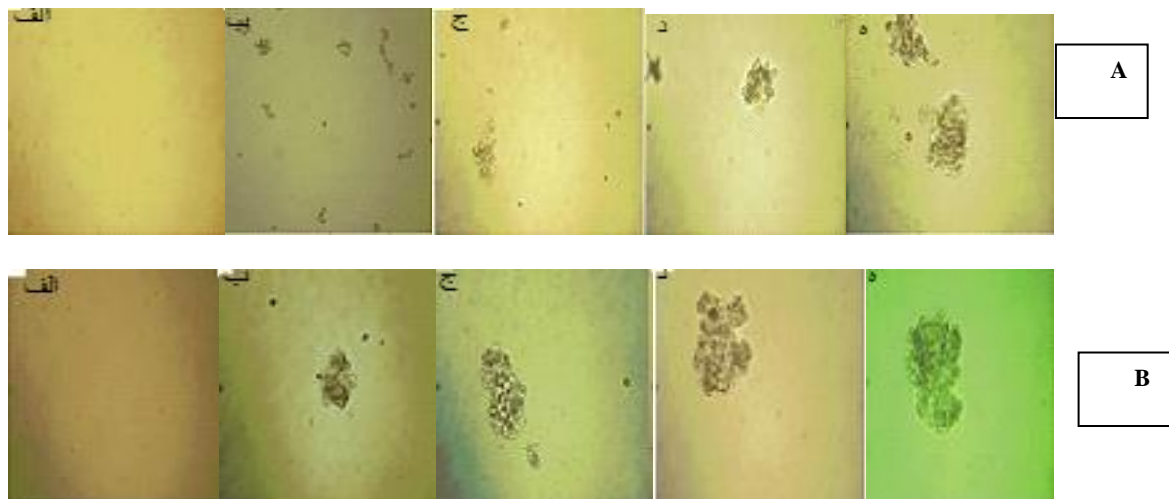
درصد حیات سلول ها در مورد هر غلظت پس از گذشت ۲۴ ساعت محاسبه گردید. غلظتی از داروی

### یافته ها:

اجسام کروی از سوسپانسیون تک سلولی شده دو رده سلولی MKN45 و AGS در فلاسک سلولی ۲۵ سانتی متری با چسبندگی کم (Low attachment) و در شرایط کشت سه بعدی تشکیل شد. بیشترین میزان آپتوز طی ۳ روز اول کشت در هر دو رده سلولی AGS و MKN45 مشاهده شد. تعداد سلول هایی که دچار آپتوز شدند؛ در رده سلولی AGS به نسبت بسیار بیشتر از رده سلولی MKN45 بود. سلول هایی که دچار آپتوز نشدند به هم پیوسته و تشکیل کلونی های چند سلولی دادند. تعداد و اندازه کلونی ها در رده سلولی MKN45 نسبت به رده سلولی AGS بیش تر و بزرگ تر بود. با گذشت زمان کلونی ها بزرگ تر شده و مرکز کلونی ها نسبت به لبه ها تیره تر مشاهده شد. بعد از گذشت ۲۱ روز سلول های بنیادی سرطانی از سایر سلول ها به صورت کامل جداسازی شدند (تصویر شماره ۱).

ایوپروفن که درصد حیات سلولی را به نصف تقلیل دهد، به عنوان مقدار موثر دارو برای ادامه پژوهش در نظر گرفته شد. آنالیز آماری نتایج تجربی با استفاده از نرم افزار متلب انجام شد.

برای بررسی قدرت تهاجم سلول های بنیادی سرطان معده در مقایسه با سلول های بنیادی سرطانی کنترل از روش ترمیم زخم استفاده شد. ابتدا ۴۰۰۰ سلول در هر خانه از ظرف ۹۶ خانه ای کشت داده شد و پس از اینکه ۹۰ درصد از کف پلیت به وسیله سلول پوشیده شد به کمک سر سمپلر کریستالی شکافی در وسط پلیت ایجاد شد؛ سپس به هر خانه ۱۵۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM/F12 به علاوه ۱۰ درصد سرم و غلظت های ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار ایوپروفن به ترتیب به سلول های بنیادی AGS و MKN45 اضافه شد. طی مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از ایجاد شکاف تغییرات حاصل توسط میکروسکوپ فاز متضاد (Olympus) ثبت شد.



**تصویر شماره ۱: مراحل جداسازی سلول های بنیادی سرطانی از دو رده سلولی سرطان معده (A) AGS و (B) MKN45**

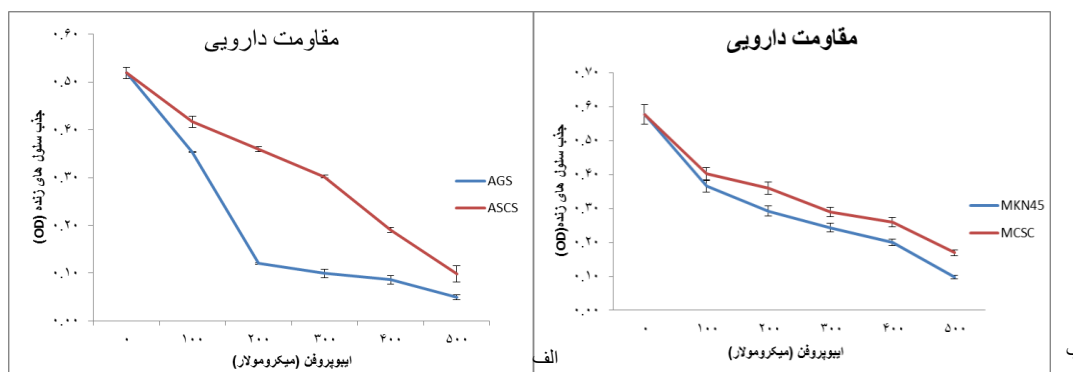
الف: رده سلولی که به صورت دانه دانه از هم جدا شده اند، ب، ج، د و به ترتیب تشکیل کلونی در روزهای ۳، ۱۰، ۱۴ و ۲۱ بعد از کشت را نشان می دهند. تصاویر توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ۲۰۰x ثبت شد.

MKN45 سلول های بنیادی سرطانی جداسازی شده از آن ها با غلظت های مختلفی از ایوپروفن تیمار شد و پس از ۲۴ ساعت میزان زنده ماندن سلول ها بررسی شد. در

پس از جداسازی سلول های بنیادی سرطانی برای بررسی میزان مقاومت دارویی این سلول ها نسبت به رده های سلولی والدی، سلول های رده سلولی AGS و

نتیجه این بررسی مشخص شد که میزان زنده بودن سلول های بنیادی سرطانی نسبت به رده های سلولی والدی و میزان مقاومت رده سلولی MKN45 نسبت به AGS بیشتر بود. غلظتی از داروی ایوپروفن که درصد

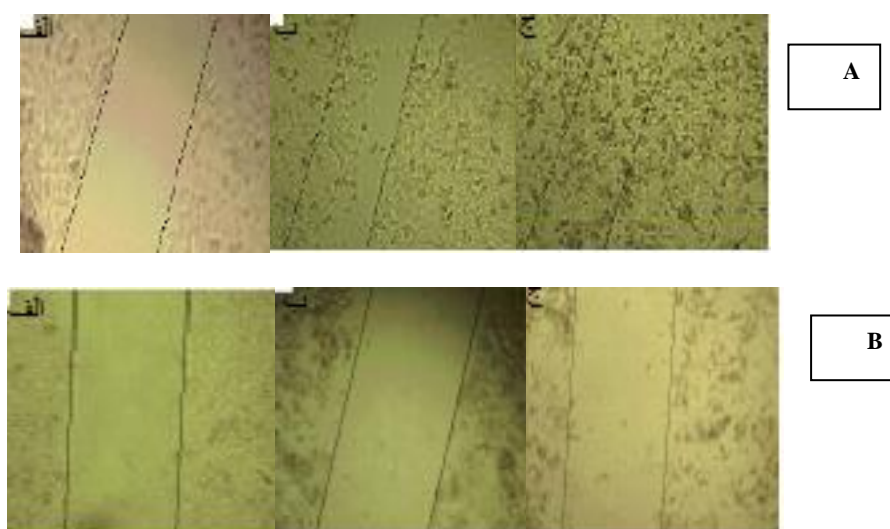
حیات سلولی را به نصف تقلیل دهد، برای سلول های بنیادی سرطانی جداسازی شده از دو رده سلولی MKN45 و AGS به ترتیب ۴۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار به دست آمد (نمودار شماره ۱).



**نمودار شماره ۱: مقاومت دارویی سلول های بنیادی سرطانی و رده سلولی والدینی که با ایوپروفن تیمار شده اند**  
(الف) سلول های بنیادی سرطانی (AGS)، (نمودار قرمز) و رده سلولی والدینی AGS (نمودار آبی) (ب) سلول های بنیادی سرطانی (MSCS)، (نمودار قرمز) و رده سلولی والدینی MKN45 (نمودار آبی).

در بررسی قدرت تهاجم سلول های بنیادی سرطانی تیمار شده با ایوپروفن در هر دو رده سلولی مهار می شود (تصاویر شماره ۲ و ۳).

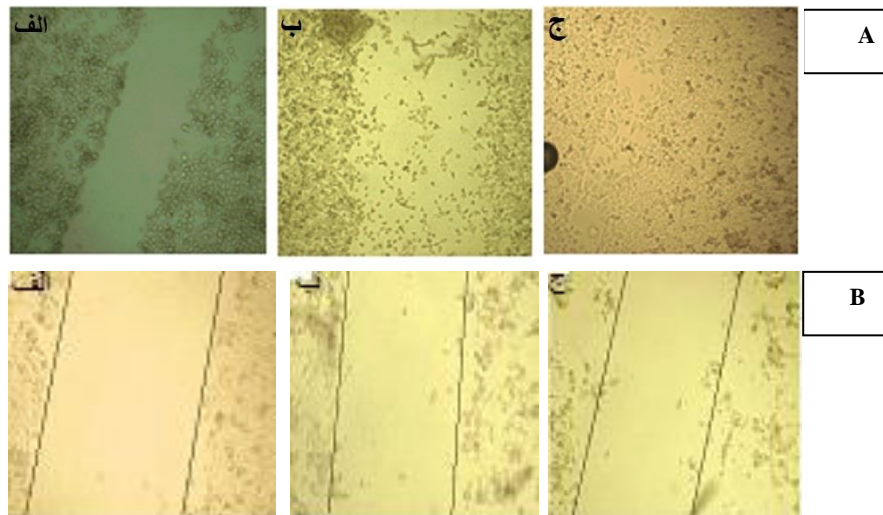
در بررسی قدرت تهاجم سلول های بنیادی سرطانی مشخص شد که متاستاز در سلول های بنیادی



**تصویر شماره ۲: بررسی قدرت تهاجم سلول های بنیادی سرطانی جدا سازی شده از رده سلولی AGS (A) و**

**تیمار شده با غلظت ۳۰۰ میکرومولار از ایوپروفن (B)**

تصاویر الف، ب، ج به ترتیب در زمان های ۰ و ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از ایجاد شکاف با بزرگنمایی ۱۰۰x توسط میکروسکوپ ثبت شده است.



**تصویر شماره ۳:** بررسی قدرت تهاجم سلول های بنیادی سرطانی جداسازی شده از رده سلولی MKN45 (A) و تیمار شده با غلظت ۴۰۰ میکرومولار از ایوپروفن (B)

تصاویر الف، ب، ج به ترتیب در زمان های ۰ و ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار و ایجاد شکاف با بزرگنمایی ۱۰۰x توسط میکروسکوپ ثبت شده است.

## بحث:

می شوند. ۶۰ سال قبل برای اولین بار حضور سلول های بنیادی در دستگاه گوارش توسط Charles leblond معرفی شد. مطالعات فراوانی انجام شده است که نشان می دهند سلول های بنیادی سرطانی در سرطان معده حضور دارند (۲۴، ۲۵). برای جداسازی سلول های بنیادی سرطانی از سایر سلول های توموری از روش های مختلفی استفاده می شود که یکی از کاراترین و موثرترین روش ها که در مطالعات گسترده ای نیز مورد استفاده قرار گرفته است، تشکیل اجسام کروی می باشد (۱۶). در مطالعه حاضر نیز با استفاده از این روش که متکی بر قدرت خود تجدیدی سلول های بنیادی سرطانی است و در شرایط کشت سه بعدی (3 dimensional culture) و با استفاده از فاکتور رشد، سلول های بنیادی سرطانی از سایر سلول های توموری موجود در دو رده سلولی AGS و MKN45 در طول مدت ۲۱ روز جداسازی شدند.

از آنجایی که سلول های بنیادی سرطانی منشاء همه سلول های بدخیم در یک تومور اولیه هستند و

دو ویژگی خود تجدیدی و تکثیر گسترده سلول های بنیادی آن ها را کاندیدی مناسب در به وجود آوردن فنوتیپ بدخیم قرار داده است (۲۳-۲۰). مطالعات انجام شده طی ۴۰ سال گذشته وابستگی و شباهت زیادی را بین ویژگی های سلول های بنیادی و برخی سرطان های انسانی نشان داده است. جمعیتی متمایز و نادر از سلول های شروع کننده سرطان در سرطان های سیستم خون ساز، مغز و سینه شناسایی شده اند که این سلول ها توانایی خود تجدیدی، توانایی بالقوه برای تولید انواع مختلف رده های سلولی در یک بافت توموری و همچنین تکثیر گسترده و تولید جمعیتی از سلول های بدخیم را دارند. به این ترتیب خصوصیات سلول های شروع کننده تومور در موازات با ویژگی های تعریف شده برای سلول های بنیادی است. سلول های بدخیم با این ویژگی های عملکردی، «سلول های بنیادی سرطانی» نامیده می شوند (۲۲). مطابق یک نظریه سلول های بنیادی سرطانی از جهش در سلول های بنیادی موجود در بافت ها حاصل

می توانند جمعیت سلول های مقاوم به دارو درمانی را تشکیل دهند، یکی از روش های تأیید بنیادی بودن سلول های سرطانی جداسازی شده، بررسی مقاومت دارویی این سلول ها نسبت به سایر سلول های توموری است (۱۶). در این مطالعه مقاومت سلول های بنیادی جداسازی شده از دو رده سلولی نسبت به سلول های والدی خود در برابر داروی ایوپروفن بررسی شد که در نتیجه این بررسی مشخص شد که مقاومت سلول های بنیادی جداسازی شده از دو رده سلولی در برابر داروی ایوپروفن نسبت به سلول های والدی خود بیشتر است و غلظتی از داروی ایوپروفن که هنوز نیمی از سلول ها در آن غلظت زنده بودند، نیز طی این بررسی برای سلول های بنیادی سرطانی جداسازی شده از رده های سلولی AGS و MKN5 محاسبه شد. متاستاز مسئول اکثر مرگ های ناشی از سرطان است. شواهد نشان می دهند سلول های شروع کننده متاستاز به زیر گروهی از سلول های بنیادی سرطانی متعلق می باشند. ویژگی هایی که سلول بنیادی سرطانی را کاندید مناسبی برای متاستاز قرار داده است، شامل توانایی شروع تومور، بیان مارکرهای انتقال اپیتلیال به مزانشیم (Epithelial-mesenchymal transition= EMT) و سایر مارکرهای سطحی دخیل در قدرت تهاجم و متاستاز می باشد (۲۶، ۲۷). در تحقیقات گسترده انجام شده در سرطان های مختلف مشخص شده است که قدرت متاستاز و تهاجم سلول های بنیادی سرطانی نسبت به سایر سلول های توموری بیشتر است. برای کاهش و مهار قدرت تهاجم این سلول ها در مطالعات مختلف از مواد و روش های گوناگونی استفاده شده است. ایوپروفن عضوی از خانواده داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی است. ایوپروفن به خاطر اثرات مطلوبش و نیز عوارض جانبی کمتر نسبت به آسپرین و اندومتاسین، در بین مصرف کنندگان داروهای خانواده NSAID مشهور شد. ایوپروفن بعد از آسپرین از پر

مصرف ترین داروهایی می باشد که جهت کاهش درد، التهاب و تب استفاده می شود. مطالعات بیانگر مهار پیشرفت و گسترش تومور در ارتباط با مصرف ایوپروفن می باشد. مصرف ۶۰۰ میلی گرم ایوپروفن در هفته به مدت یکسال با کاهش خطر ابتلا و گسترش سرطان سینه همراه است (۲۸). در رده های سلولی مربوط به سرطان کولورکتال HT-29 (رده سلول در انسان) و MC-26 (رده سلول در موش) ایوپروفن با مهار رگ زایی رشد تومور و متاستاز را کاهش می دهد (۲۹). در تحقیق حاضر برای بررسی توانایی داروی ایوپروفن در کاهش قدرت تهاجم و متاستاز سلول های بنیادی سرطانی از تکنیک ترمیم زخم استفاده شد که در نتیجه این بررسی مشخص شد که داروی ایوپروفن در غلظت های ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار به ترتیب در سلول های بنیادی جداسازی شده از رده های سلولی AGS و MKN45 در مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت نسبت به نمونه کنترل باعث کاهش زیادی در قدرت تهاجم و متاستاز این سلول ها شد.

### نتیجه گیری:

نتایج حاصل از این مطالعه بیان کننده تأثیر داروی ایوپروفن بر قدرت متاستاز و تهاجم سلول های بنیادی سرطان معده به عنوان سلول های شروع کننده و گسترش دهنده سرطان می باشد. به نظر می رسد که با بررسی های بیشتر در این زمینه می توان از ایوپروفن به عنوان دارویی برای بهبود و درمان سرطان نیز استفاده کرد.

### تشکر و قدردانی:

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی سلولی و مولکولی دانشگاه رازی کرمانشاه صورت پذیرفت. از کلیه دوستان و همکاران محترمی که در انجام گرفتن این پروژه ما را یاری رساندند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

## منابع:

1. Yang L, Ping YF, Yu X, Qian F, Guo ZJ, Qian C, et al. Gastric cancer stem-like cells possess higher capability of invasion and metastasis in association with a mesenchymal transition phenotype. *Cancer Lett.* 2011; 310(1): 46-52.
2. Rocco A, Compare D, Nardone G. Cancer stem cell hypothesis and gastric carcinogenesis: Experimental evidence and unsolved questions. *World J Gastrointest Oncol.* 2012; 4(3): 54-9.
3. Nagini S. Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World J Gastrointest Oncol.* 2012; 4(7): 156-69.
4. Gigeck CO, Chen ES, Calcagno DQ, Wisnieski F, Burbano RR, Smith MA. *Epigenomics.* 2012; 4(3): 279-94.
5. Al-Hajj M, Clarke MF. Self-renewal and solid tumor stem cells. *Oncogene.* 2004; 23(43): 7274-82.
6. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature.* 2001; 414(6859): 105-11.
7. Wicha MS. Cancer stem cells and metastasis: lethal seeds. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(19): 5606-7.
8. Yang L, Ping YF, Yu X, Qian F, Guo ZJ, Qian C, et al. Gastric cancer stem-like cells possess higher capability of invasion and metastasis in association with a mesenchymal transition phenotype. *Cancer Lett.* 2011; 310(1): 46-52.
9. Baumann M, Krause M, Hill R. Exploring the role of cancer stem cells in radioresistance. *Nat Rev Cancer.* 2008; 8(7): 545-54.
10. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer.* 2005; 5(4): 275-84.
11. Takaishi S, Okumura T, Tu S, Wang SS, Shibata W, Vigneshwaran R, et al. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells.* 2009; 27(5): 1006-20.
12. Saikawa Y, Fukuda K, Takahashi T, Nakamura R, Takeuchi H, Kitagawa Y. *Gastric Cancer.* 2010; 13(1): 11-24.
13. Lobo NA, Shimono Y, Qian D, Clarke MF. The biology of cancer stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007; 23: 675-99.
14. Beck B, Driessens G, Goossens S, Youssef KK, Kuchnio A, Caauwe A, et al. A vascular niche and a VEGF-Nrp1 loop regulate the initiation and stemness of skin tumours. *Nature.* 2011; 478(7369): 399-403.
15. Tirino V, Desiderio V, Paino F, Papaccio G, De Rosa M. Methods for cancer stem cell detection and isolation. *Methods Mol Biol.* 2012; 879: 513-29.
16. Liu J, Ma L, Xu J, Liu C, Zhang J, Liu J, et al. Spheroid body-forming cells in the human gastric cancer cell line MKN-45 possess cancer stem cell properties. *Int J Oncol.* 2013; 42(2): 453-9.
17. Pountos I, Georgouli T, Bird H, Giannoudis PV. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: prostaglandins, indications, and side effects. *Int J Inflamm Cytokine Mediator Res.* 2011; 3(1): 19-27.
18. Hung WC. Anti-metastatic action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Kaohsiung J Med Sci.* 2008; 24(8): 392-7.
19. Epetto G, Del Peso A, Zurita JL. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nat Protoc.* 2008; 3(7): 1125-31.
20. Al-Hajj M, Clarke MF. Self-renewal and solid tumor stem cells. *Oncogene.* 2004; 23(43): 7274-82.

21. Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3(12): 895-902.
22. Craig T, Jordan PD, Monica L. Mechanisms of Disease Cancer Stem Cells. *N Engl J Med*. 2006; 355: 1253-61.
23. Rocco A, Compare D, Nardone G. Cancer stem cell hypothesis and gastric carcinogenesis: Experimental evidence and unsolved questions. *World J Gastrointest Oncol*. 2012; 4(3): 54-9.
24. Modlin IM, Kidd M, Lye KD, Wright NA. Gastric stem cells: an update. *Keio J Med*. 2003; 52(2): 134-7.
25. Singh SR. Gastric cancer stem cells: a novel therapeutic target. *Cancer Lett*. 2013; 338(1): 110-9.
26. Sampieri K, Fodde R. Cancer stem cells and metastasis. *Semin Cancer Biol*. 2012; 22(3): 187-93.
27. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009; 139(5): 871-90.
28. Rainsford KD. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety. *Inflammopharmacology*. 2009; 17(6): 275-342.
29. Yao M, Zhou W, Sangha S, Albert A, Chang AJ, Liu TC, et al. Effects of nonselective cyclooxygenase inhibition with low-dose ibuprofen on tumor growth, angiogenesis, metastasis, and survival in a mouse model of colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2005; 11(4): 1618-28.



## **Evaluate the inhibitory effect of ibuprofen on metastasis and invasion in Gastric cancer stem cells**

Mahmoodi F, Akrami H\*

Biology Dept., Razi University Kermanshah, Kermanshah, I.R. Iran.

Received: 21/Apr/2014 Accepted: 18/Jan/2015

**Background and aims:** In each of cancers tissues, a rare population and isolated cells known as cancer stem cells are responsible for the initiation, development, metastasis and invasion of the cancers. Numerous studies established that non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as ibuprofen inhibit the promotion and proliferation of some tumors. The present study was aimed to investigate the effect of ibuprofen on metastasis and invasion power of gastric cancer stem cells.

**Methods:** In this experimental study, Gastric cancer stem cells of AGS and MKN45 cell lines were isolated by the spheroid colony formation technique. Gastric cancer stem cells were treated with concentrations 100-500 ( $\mu$ M) of ibuprofen. Invasion and metastatic potential of cancer stem cells comparison to control cells were determined using the wound healing method.

**Results:** Invasion and metastatic power of the cancer stem cells isolated from AGS and MKN45 cell lines treated with concentrations 300 and 400 ( $\mu$ M) of ibuprofen compared to control cancer stem cells were reduced.

**Conclusion:** The results of this study represent the effect of ibuprofen on invasion and metastasis of gastric cancer stem cells; as the cells that involved in the start and spread of cancer. It seems Ibuprofen can also be used as a medicine to improve the treatment of cancer, if further researches perform in this area.

**Keywords:** Gastric cancer, Cancer stem cells, Metastasis, Invasion.

**Cite this article as:** Mahmoodi F, Akrami H. Evaluate the inhibitory effect of ibuprofen on metastasis and invasion in Gastric cancer stem cells. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(4): 88-96.

---

**\*Corresponding author:**

Biology Dept., Razi University Kermanshah, Kermanshah, I.R. Iran, Tel: 00989124186423,  
E-mail: h.krami@razi.ac.ir